

文章编号: 1004 - 7271(2001)03 - 0252 - 05

从鱿鱼墨中精制黑色素

李兴旺, 王 懋, 蒋霞云

(上海水产大学食品学院, 上海 200090)

摘 要:介绍了以鱿鱼墨为原料从中提取、精制黑色素的工艺。具体路线为:原料鱿鱼墨经水洗、酸洗、浓酸水解去除绝大多数杂质后,添加二甲亚砜(DMSO)使黑色素完全溶解,然后,加入丙酮改变溶液极性,减小黑色素的溶解度,从而使黑色素再次析出,经三次重结晶,以达到精制目的。在此基础上,测定了鱿鱼墨黑色素的一些物理和化学性质,精制所得黑色素呈黑褐色,不溶于水及通常的有机溶剂,但可溶于碱、浓硫酸、二甲亚砜等。紫外-可见光谱和红外光谱初步表明鱿鱼墨黑色素是以吲哚结构为主体的异聚物。

关键词:鱿鱼墨;黑色素;精制

中图分类号:S985.9 **文献标识码:**A

The purification of melanin extracted from squid ink

LI Xing-wang, WANG Zao, JIANG Xia-yun

(College of Food Science, SFU, Shanghai 200090, China)

Abstract: A method for the purification of melanin extracted from squid ink was introduced in this paper. After removing most associated impurities by acid washing and concentrated acid hydrolysis, DMSO was added in order to dissolve the melanin completely, then the melanin was precipitated by adding acetone due to the change of polarity in the solvent system. Finally, recrystallization was repeated for three times and refined melanin pigment was obtained. Besides, the physical and chemical properties of the refined melanin were determined, including ultraviolet-visible and infrared (IR) spectra. The results revealed that the melanin is an irregular high-polymer consisting of indole structure.

Key words: squid ink; melanin; refining

黑色素是一种广泛分布于动植物体中的色素,构造不规则的高分子物质。是通过多羟基酚(通常结合着蛋白)氧化而形成的高分子化合物。按照 Nicollaus^[1] 的观点,可将其分成三类:①真黑素(eumelanins),主要是呈黑色和褐色的含氮色素,由酪氨酸、二羟基苯丙氨酸(多巴)、多巴胺、酪胺等氧化聚合而成。②棕黑素(phaeomelanins),颜色稍浅,常呈棕色、红色甚至黄色,是由酪氨酸经与上述同样途径合成而来,其中有半胱氨酸等的参与。③异黑素(allomelanins),常呈黑色,主要存在于植物体内,这种异黑素是在多酚氧化酶(polyphenol oxidase)存在下通过多酚的氧化聚合而形成的。而按照碱解或氧化降解产物来看,可将黑色素分为吲哚构架和儿茶酚构架两种。目前,国内曾有关于从乌骨鸡的皮肤、肌肉、骨骼(骨膜)中提取黑色素,并对其元素组成、基本结构特征及延缓衰老等方面作了初步研究的报道^[2-4],但有关从鱿鱼墨中提取黑色素尚少见报道。本文以鱿鱼墨为原料,从中提取并进一步精制黑色素,并对所制得的黑色素的物理和化学性质进行了研究,应用红外光谱等技术,对该黑色素结构特征进

行了分析。

1 材料与方法

1.1 实验材料

鱿鱼墨囊由中国水产总公司(上海公司)提供,主要从太平洋褶柔鱼(*Todarodes pacificus*)和阿根廷短鳍枪乌贼(*Illex argentinus*)中采集。

1.2 鱿鱼墨汁主要成分测定

对鱿鱼墨汁中水分、灰分、粗脂肪、粗蛋白进行测定参考文献[5]。

1.3 黑色素的提取、精制方法

墨囊在室温下解冻,挤压获得墨,用蒸馏水洗涤,4500 × g 离心 20min,除去杂质。然后用 1% HCL 洗涤,并磁力搅拌 10min,4500 × g 离心过滤。

加入浓盐酸,105℃下回流水解 48h,水解结束后加入蒸馏水稀释,振荡,离心过滤,经多次水洗、离心,至中性,得到沉淀物,即得粗黑色素。

所得粗黑色素用二甲亚砜(DMSO)在 40℃充分搅拌溶解 2h,所得溶液在 4500 × g 离心分离 20min,将不溶物除去后,加入丙酮,使黑色素析出,在 4500 × g 离心 10min,经三次重结晶后所得沉淀减压干燥(50 ~ 55℃, < 2 × 10⁴ Pa),即得精制黑色素。

1.4 黑色素的紫外-可见光谱表征

仪器:Unico UV-2102PC 紫外可见分光光度计,

溶剂为二甲亚砜(DMSO),

方法:在 200nm ~ 800nm 对黑色素进行扫描测定。

1.5 黑色素的红外光谱(IR)表征

仪器:美国 NICOLET 公司的 FT-IR 5DX 型红外光谱仪,

方法:采用 KBr 压片,谱域 400 ~ 4000/cm⁻¹对黑色素进行红外扫描。

2 结果与讨论

2.1 鱿鱼墨汁的一般成分

鱿鱼墨汁的一般成分测定结果如表 1。成分分析表明,鱿鱼墨中蛋白质含量较高,粗脂肪含量相对较低。

2.2 提取过程酸的选择及最适水解时间的确定

黑色素不溶于酸性溶液,因此,水解可用浓盐酸、浓磷酸等,但实验结果表明,采用浓盐酸水解效果优于其它

酸。另外,鱿鱼墨中含有蛋白质,经浓盐酸 105℃下水解后产物中除了黑色素和酸不溶物外,氨基酸是主要成分,故在酸水解过程中,采用茚三酮比色法监测水解物中氨基酸的浓度,直到氨基酸浓度不再改变为止(一般 48h 即可),则表示水解完全。至此,可以认为已去除大部分的大分子杂质。

2.3 精制过程溶剂 DMSO 的最适用量

通过添加可溶解黑色素的溶剂,对含有黑色素的固型物进行抽提,离心分离,从而将不溶物从黑色素的溶液分离开来。作为可溶解黑色素的有机溶剂有二甲亚砜(DMSO)、二甲替甲酰胺、吡啶等。通过采用添加 2.5、10 倍溶剂(重量)对比实验,结果表明该溶剂使用量为固型物的 5 倍(重量)左右为宜,分离后即可得到黑色素溶液。

表 1 鱿鱼墨的一般成分表

Tab.1 Proximate composition of squid ink

成分	粗蛋白	粗脂肪	灰分	水分	其他
含量 (%)	17.3	1.7	2.5	67.5	11

2.4 精制过程沉淀剂丙酮的最适用量

实验表明,能与黑色素的可溶性溶剂互溶,但又不溶解黑色素的沉淀剂有丙酮、乙醇等醇类、氯仿、正己烷等,其中丙酮和正己烷效果较好,沉淀剂用量以黑色素溶剂的4~5倍(重量)为宜。

2.5 精制黑色素的得率、外观及其溶解性

本实验精制黑色素得率为3.7%(以鱿鱼墨干重计),精制所得黑色素呈黑褐色、无定型态,不溶于水及部分有机溶剂,如乙醇、苯、氯仿、丙酮、正己烷,可溶于碱(NaOH、KOH等)、浓硫酸、二甲亚砜。

2.6 黑色素的紫外-可见光谱

黑色素的紫外-可见光谱如图1所示。由图1可知,鱿鱼墨黑色素在可见光区域未见明显吸收峰,且随波长增加,吸收值逐渐减少。而在紫外光区域(200~400nm)中,存在两个吸收峰,其中在约215nm处有较大吸收。

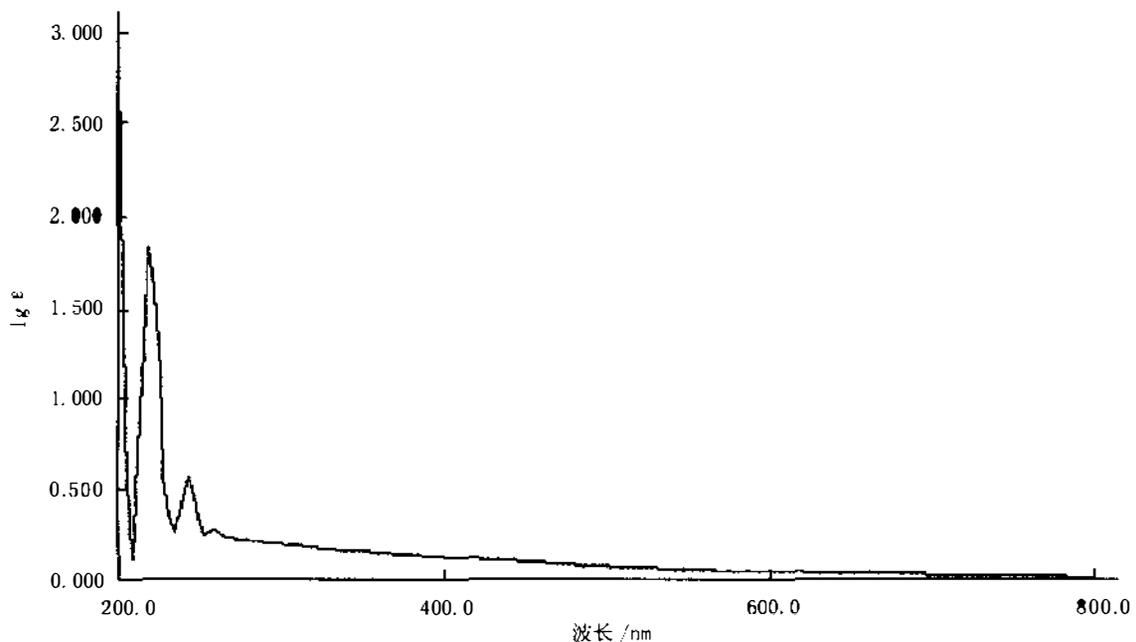


图1 鱿鱼墨黑色素的紫外(UV)-可见光谱图

Fig.1 UV-Visible spectra of melanin extracted from squid ink

2.7 黑色素的红外光谱(IR)

红外光谱能够表征黑色素结构中的主要功能性基团^[6,7]。鱿鱼墨精制黑色素经三次重结晶后的IR光谱结果如图2所示。基团特征吸收峰归属见表2^[8,9]。从图2可见,黑色素基团的特征吸收峰主要集中在3500~3300 cm^{-1} , 2980~2950 cm^{-1} , 1620~1600 cm^{-1} , 1465~1250 cm^{-1} 几组峰上,3400 cm^{-1} 附近出现强且宽的吸收峰,主要是因为OH及NH₂的伸展振动,1610 cm^{-1} 处的强峰

表2 鱿鱼墨黑色素 IR 吸收峰的归属
Tab.2 A summary of the structure components of the melanins from squid ink indicated by IR spectra

波数/ cm^{-1}	归属
3353.1(强、宽)	OH 和 NH ₂ 的伸展振动
2980 - 2850(强)	C-H 伸缩振动
1609.4	酰胺 I 带中 C=O 或芳环 C=C 或羧酸基团 COO- 的伸展振动
1465.6	脂肪族 C-H 的弯曲或 NH ₂ 剪式振动
1287.5	C-H 伸展与 O-H 变形振动

主要是芳环 C=C 或羧酸基团 COO⁻ 的伸展振动或酰胺 I 带中 C=O 伸展振动引起的, 而其中以 1609.4 cm⁻¹ 最强, 说明鱿鱼墨黑色素结构中吲哚环占相当大的比例, 即鱿鱼墨黑色素分子中具有明显的吲哚结构特征。国外许多工作者对其它来源的黑色素也做过红外光谱研究, 在主要特征吸收峰所处位置方面非常接近, 但波形略有不同^[10]。说明黑色素的主要功能性基团是一致的, 但因来源不同, 故具体结构各异。

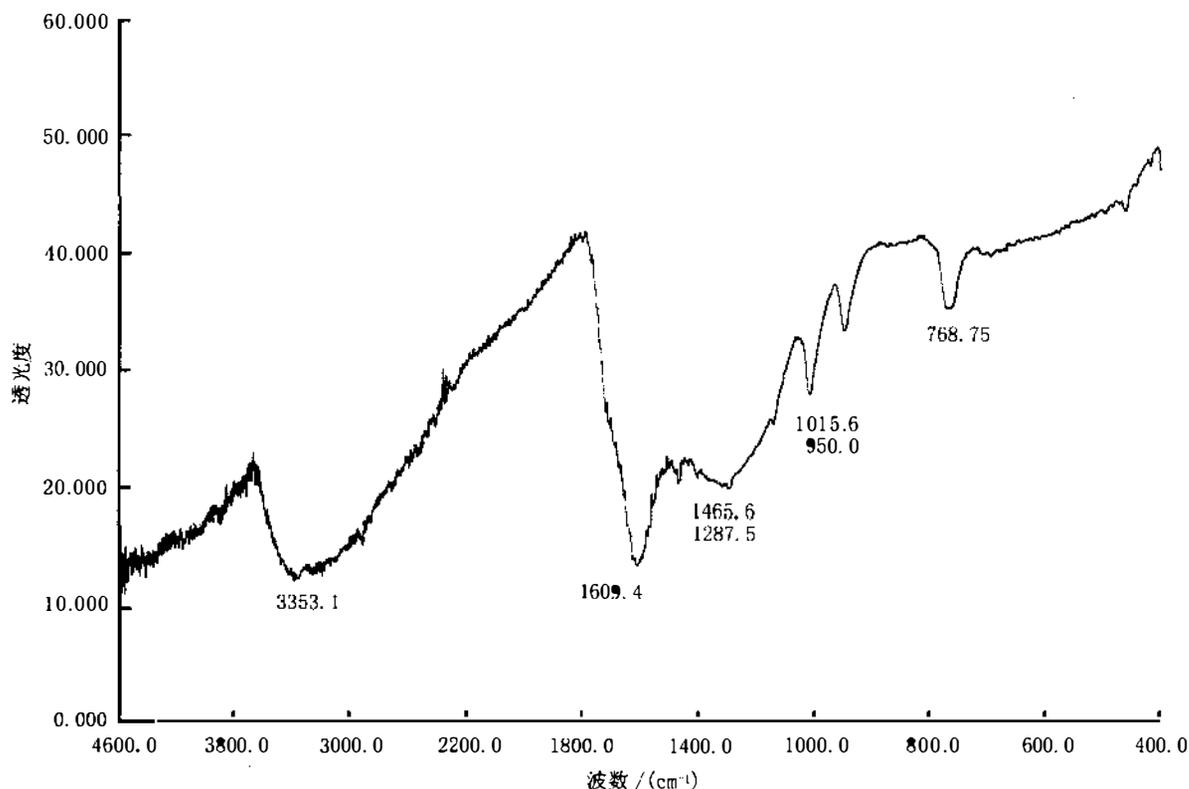


图2 鱿鱼墨黑色素的红外(IR)光谱图

Fig.2 IR spectra of melanin extracted from squid ink

3 结论

(1) 综上所述, 从鱿鱼墨中提取、精制黑色素的路线为:

鱿鱼墨 → 挤压 → 水洗 → 酸洗 → 浓盐酸 105℃ 水解 → 水洗至中性 → 离心 → 黑色素 → 加入 DMSO → 搅拌 → 加入丙酮 → 析出沉淀物 → 三次重结晶 → 减压干燥 → 精制黑色素

(2) IR 光谱中以主要表征吲哚环的 1609.4 cm⁻¹ 处吸收峰最强, 初步表明出鱿鱼墨黑色素是以吲哚结构为主体构架。

参考文献:

- [1] Nicolaus R A. Melanins[A]. Chemistry of Natural Products[M]. Harmann, Paris:1968.68-91.
- [2] 刘望夷, 蔡菊娥, 沈枝安. 等, 乌骨鸡黑色素的元素组成与自由基状态初探[J]. 分子科学与化学研究, 1982, (3):95-100.
- [3] 袁 纛, 袁 星. 乌骨鸡黑色素的一些基本结构特征的初步研究[J]. 动物学报, 1993, 39(3):287-291.
- [4] 徐幸莲, 庄 苏, 陈伯祥. 乌骨鸡黑色素对延缓果蝇衰老的作用[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2):105-108.
- [5] 大连轻工业学院. 食品分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1994.75-223.
- [6] Bull, A T, Chemical composition of wide-type and mutant *Aspergillus nidulans* cell walls. The nature of polysaccharide and melanin constituents.

- J Gen Microbiol[J], 1970, 63: 75 - 94.
- [7] Paini, S, Linhares, L F, Magrich, A S, et al, Characterization of fungal melanins and soil humic acids by chemical analysis and infrared spectroscopy, Biol Fertil Soil, 1990, 10: 72 - 76.
- [8] 陈耀祖. 有机分析[M]. 北京: 高等教育出版社, 1981. 587 - 598.
- [9] 谈天. 谱学方法在有机化学中的应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1985. 48 - 75.
- [10] Bonner, T G, Duncan, A, Infra-Red spectra of some melanins, Nature[J], Biochemistry, 1962, 194: 1078 - 1079.

欢迎订阅 2002 年《北京水产》

《北京水产》杂志社, 编辑出版《北京水产》(单月出版)、《中国观赏鱼》(双月出版)两本杂志, 并代理经销“啄木鸟”系列观赏鱼药、“情趣”系列水族箱及器材、水产及观赏鱼专业书店。

《北京水产》1982 年创刊, 以“推广渔业科技, 倡导水产消费”为宗旨, 定位以现代渔业、水产品加工及市场信息为主。设思路与探讨、现代渔业、水产品与健康、水产品加工、美食庄园、水产厨艺、市场行情、水产超市、供求商桥、展会信息等栏目。《北京水产》大 16 开, 88 页, 国内外公开发行, 全国各地邮局均可订阅, 国内统一刊号: CN11 - 4692/S, 国际刊号: ISSN1671 - 2110, 邮发代号: 2 - 773, 全年订价 24.00 元。

《中国观赏鱼》是全国唯一一本观赏水族刊物, 以“发展观赏鱼事业, 引领水族消费”为宗旨, 开辟有各种观赏鱼养殖、欣赏、疾病防治、水草造景、发烧友天地、各地鱼市、海洋馆介绍、水族与家居、宠物物语、企业名片等栏目, 集养殖技术、欣赏、信息于一体。《中国观赏鱼》大 16 开, 88 页, 彩页印刷, 每期定价 8 元, 其中第 5 期为一年一度观赏鱼特刊, 将在观赏水族展览会上大量发放, 特刊定价 25 元, 订阅全年优惠价: 50 元(含特刊)。请直接汇款至编辑部订阅。

以上两本杂志欢迎投稿、订阅及广告合作。我们将与企业界朋友一道, 引领水产、水族消费的新时尚。

杂志社地址: 北京朝阳区黑庄户大鲁店东街 100023

电话/Tel: 010 - 85789960 85789961 85789912

传真/Fax: 010 - 85789912

http://www.bjfisheries.net E-mail: guanlong@263.net